

AF

CELL ACTIVATOR**Publication number:** WO0160388**Publication date:** 2001-08-23**Inventor:** MIYAKE TOSHIO (JP)**Applicant:** HAYASHIBARA BIOCHEM LAB (JP); MIYAKE TOSHIO (JP)**Classification:**

- international: A23G3/00; A23G9/32; A23L1/076; A23L1/09; A23L1/29; A23L1/30; A23L2/52; A61K8/60; A61K8/73; A61K8/98; A61K31/7016; A61K35/64; A61P7/00; A61P43/00; A61Q19/00; A23G3/00; A23G9/32; A23L1/076; A23L1/09; A23L1/29; A23L1/30; A23L2/52; A61K8/30; A61K8/72; A61K8/96; A61K31/7016; A61K35/56; A61P7/00; A61P43/00; A61Q19/00; (IPC1-7): A61K35/64; A23L1/076; A23L1/29; A61K7/00; A61K7/48; A61K31/7016; A61P7/00; A61P43/00

- European: A61Q19/00; A23G3/42; A23G3/48; A23G9/34; A23G9/42; A23L1/076; A23L1/09; A23L1/30; A23L2/52; A61K8/60; A61K8/73; A61K8/98F2; A61K35/64

Application number: WO2001JP01045 20010214**Priority number(s):** JP20000037200 20000215**Also published as:**

EP1256349 (A1)

US2003059479 (A)

Cited documents:

EP0600730

JP11032705

JP60037942

JP10279463

JP10095704

more >>

Report a data error he**Abstract of WO0160388**

It is aimed to develop a means of exerting the analeptic effect inherent to royal jelly which can be conveniently used everyday. This object is achieved by providing a cell activator which contains royal jelly and trehalose.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001 年 8 月 23 日 (23.08.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/60388 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61K 35/64, 31/7016, 7/00, 7/48, A61P 43/00, 7/00, A23L 1/29, 1/076
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/01045
- (22) 国際出願日: 2001 年 2 月 14 日 (14.02.2001)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2000-37200 2000 年 2 月 15 日 (15.02.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社 林原生物化学研究所 (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KENKYUJO) [JP/JP]; 〒700-0907 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 Okayama (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 三宅俊雄 (MIYAKE, Toshio) [JP/JP]; 〒700-0907 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社 林原生物化学研究所内 Okayama (JP).
- (81) 指定国 (国内): BR, JP, KR, US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: CELL ACTIVATOR

(54) 発明の名称: 細胞賦活剤

(57) Abstract: It is aimed to develop a means of exerting the analeptic effect inherent to royal jelly which can be conveniently used everyday. This object is achieved by providing a cell activator which contains royal jelly and trehalose.

(57) 要約:

本発明は、日常的に簡便に利用することができる、ローヤルゼリー本来の強壮作用を発揮する手段の提供を課題とし、この課題を、ローヤルゼリーとトレハロースとを含んでなる細胞賦活剤を提供することにより解決するものである。



WO 01/60388 A1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

明 細 書

細胞賦活剤

5 技術分野

この発明は、新規な細胞賦活剤、詳細には、ローヤルゼリーとトレハロースとを含む細胞賦活剤に関するものである。

背景技術

- 10 ローヤルゼリーは、ミツバチの巣における王台（女王バチの房）に蓄積された、働きバチの外分泌腺からの乳白色の分泌物であり、女王バチとなるべき幼虫に与えられる餌である。王台で孵化したミツバチの幼虫は、その時点では働きバチと区別できないが、ローヤルゼリーを十分に摂取して生育すると、働きバチに比べて体が大きく、寿命が長く、産卵
- 15 数が多い女王バチに成長する。このことから、ローヤルゼリーには強壮・強精等の諸種の生理作用があるとされてきた。例えば、『嗜好 別冊ハネー・ブック』（昭和40年、明治屋本社発行）、22頁には、「人間に対するローヤル・ゼリーの生理実験結果を総括的にみると、『体力は増し、精力は盛んになり、皮膚は活力を増し、白髪が黒化する』など、はっきりした医用効果があるようである」と記載されている。また、
- 20 ローヤルゼリーは天然の産物であることから、ヒトを含む哺乳類が摂取した際に重篤な副作用は示し難いと考えられる。これらのことから、強壮作用の発現を目的とするローヤルゼリーの利用は、現行の強壮剤にしばしば見られる危険性を克服しうるものとして大いに期待されている。
- 25 しかしながら、ローヤルゼリーは、採取されたそのままの状態では品質が劣化し易く、その作用が速やかに減衰するという問題がある。この

ような問題に対しては、ローヤルゼリーを採取後速やかに、例えば、0℃以下ないしはそれに近い低温で保存して利用したり、乾燥させて利用するなどの対策が講じられている。このような対処法は、保存期間中の品質の劣化の抑制にある程度の効果を示し得る。その一方で、ローヤルゼリー

5 リーの低温保存は実際の取扱いが煩雑であるという問題がある。また、ローヤルゼリーの乾燥はその工程中に本来の品質の劣化が免れず、製品がローヤルゼリー本来の作用を十分に発揮し得ないという問題がある。このように、ローヤルゼリーは現在のところ、その期待に反して、簡便かつ有効に強壮剤として利用されているといえる状況にはない。

10 斯かる状況に鑑み、この発明の課題は、ローヤルゼリー本来の強壮作用を発揮する、日常的に簡便に利用することができる手段を提供することにある。

発明の開示

15 本発明者は、上記の課題を解決するため、低温保存された未加工のローヤルゼリー（以下、「未加工のローヤルゼリー」を「生ローヤルゼリー」という場合がある。）に種々の物質を配合してなる組成物を、低温保存された生ローヤルゼリーを対照として、諸種の条件下で一定期間保存した後の作用について比較検討した。その結果、上記のようにローヤルゼリーとトレハロースとを配合した組成物においては、常温条件下で比較的長期にわたって保存した後も、ローヤルゼリーによる細胞賦活作用が安定に維持され、ヒトを含む哺乳類の強壮に極めて有効であることを独自の知見として見出した。この発明は以上の知見に基づき完成されたものである。

20

25 すなわち、この発明は、ローヤルゼリーとトレハロースとを含んでなる細胞賦活剤とその製造方法ならびに用途を提供することにより上記の

課題を解決するものである。

発明を実施するための最良の形態

この発明の細胞賦活剤はローヤルゼリーとトレハロースとを含んでなる。この発明でいうローヤルゼリーとは、働きバチにより分泌され、巣の王台に蓄積された、女王バチの幼虫に餌として与えられる乳白色の液体を意味し、分泌するハチの種類やその産地に特に限定はない。分泌するハチの種としては、セイヨウミツバチ (*Apis mellifera*)、トウヨウミツバチ (*Apis cerana*)、オオミツバチ (*Apis dorsata*)、コミツバチ (*Apis florea*) などが挙げられる。産地としては、日本、南米、北米、豪州、中国、欧州などが挙げられる。一般に、ローヤルゼリーは、対象とする個体によってはアレルギー反応等の悪影響を惹き起こす場合がある。南米、とりわけ、ブラジル産のローヤルゼリーはこのような悪影響が比較的少ないので、この発明の実施に特に有用である。また、この発明で用いる材料としては、できるだけ新鮮な、又は、低温保存された生ローヤルゼリーを用いるのがより望ましい。

この発明でいうトレハロースとは、2分子のグルコースが還元性基どうしで結合してなる、 α 、 α -トレハロースを意味する。トレハロースはローヤルゼリーの細胞賦活作用の安定化に奏効するので、この発明において有利に用いることができる。なお、この発明の細胞賦活剤においては、トレハロースは、ローヤルゼリーによる細胞賦活作用を安定に維持する有効量含まれてさえいればよく、その調製方法、純度及び性状は問わない。したがって、例えば、トレハロースの無水物や含水物、さらには、これらのいずれか又は両方を含有する糖組成物、これらのいずれかの結晶などは、いずれもこの発明に有利に利用できる。また、この発明の細胞賦活剤を、固状の形態、例えば、粉末、錠剤、ブロック等の形

態で提供する場合には、トレハロースの無水物を用いるのが比較的望ましい。

トレハロースは種々の方法で調製することができる。例えば、経済性を問題にするのであれば、同じ特許出願人による特開平 7-14387
5 6 号公報、特開平 7-213283 号公報、特開平 7-322883 号公報、特開平 7-298880 号公報、特開平 8-66187 号公報、特開平 8-66188 号公報、特開平 8-336388 号公報及び特開平 8-84586 号公報のいずれかに開示された非還元性糖質生成酵素及びトレハロース遊離酵素を澱粉部分加水分解物に作用させる方法が好
10 適である。この方法によるときは、廉価な材料である澱粉から、トレハロースが高収量で得られる。ちなみに、斯かる方法により調製された市販品としては、例えば、含水結晶トレハロース粉末（商品名『トレハ
15 』、固形分重量当りのトレハロース含量 98% 以上、株式会社林原商事販売）及びトレハロース含有シロップ（商品名『トレハスター』、固形分重量当りのトレハロース含量 28% 以上、株式会社林原商事販売）がある。なお、トレハロースは、マルトースに、例えば、同じ特許出願人による特開平 7-170977 号公報、特開平 8-263 号公報、特開平 8-149980 号公報のいずれかに記載されたマルトース・トレハ
20 ロース変換酵素を作用させるか、あるいは、公知のマルトース・ホスホリラーゼ及びトレハロース・ホスホリラーゼを組合せて作用させることによって得ることができる。また、トレハロースの無水物を製造するには、上記のようにして得られる含水結晶トレハロースを、例えば、70℃乃至160℃の範囲の温度で常圧乾燥又は減圧乾燥、より望ましくは、80℃乃至100℃の範囲の温度で減圧乾燥するか、あるいは、水分10%未満の高濃度トレハロース高含有溶液を助晶缶にとり、種晶共
25 存下で50乃至160℃、望ましくは80乃至140℃の範囲で攪拌し

つつ無水結晶トレハロースを含有するマスキットを製造し、これを比較的高温乾燥条件下で、例えば、ブロック粉碎、流動造粒、噴霧乾燥などの方法で晶出、粉末化する。

この発明の細胞賦活剤は、以上のようなローヤルゼリーとトレハロースとを含んでなる。この発明の細胞賦活剤におけるローヤルゼリーとトレハロースとの配合は、ローヤルゼリーの細胞賦活作用が発揮され、該作用の安定化が達成されるものであればいずれでもよい。ローヤルゼリーの細胞賦活作用は、下記の実験に詳述する方法にしたがって確認することができる。ローヤルゼリーの細胞賦活作用の安定化は、該細胞賦活作用の 1 又は 2 以上を指標として、当該細胞賦活剤とその原料に用いたローヤルゼリーとを所定の条件下で保存したときの該作用の残存率を比較することにより確認することができる。因みに、総重量あたりローヤルゼリーを、生ローヤルゼリーとしての重量換算で 1 重量%以上、望ましくは、2 重量%以上含み、該生ローヤルゼリーとしての重量に対してトレハロースを無水物重量換算で 0.2 倍量以上、望ましくは、2 倍量以上配合してなり、固状の形態にあるこの発明の細胞賦活剤は、細胞賦活作用の具体例である細胞延命作用や精巣機能の賦活作用の安定性にとりわけ優れ、その作用が顕著であることに加えて、呈味が良好であるという特長がある。なお、細胞賦活作用の安定性ならびに呈味の観点からは、この発明の細胞賦活剤におけるローヤルゼリーに対するトレハロースの配合割合の上限に特に制限はないけれども、後述のように、他の成分をさらに配合する場合には、生ローヤルゼリーとしての重量に対して、トレハロースの配合割合を、通常、50 倍量以下、望ましくは、25 倍量以下とするのがよい。

以上のようなこの発明の細胞賦活剤に抗酸化剤をさらに添加すると、細胞賦活作用の更なる安定化を達成することができる。したがって、当

該細胞賦活剤の適用対象や適用地域などに応じて、例えば、温度制御することなく船舶などで当該細胞賦活剤を輸送したり、高温の地域で利用する場合などには、必要に応じて抗酸化剤を添加することも有利に実施できる。この発明で用いる抗酸化剤は特定の種類に限定されないけれども、当該細胞賦活剤をヒトを含む哺乳類のための食用として利用する場合には、食品分野で通常用いられるものから適宜選択するのが望ましい。食品分野で通常用いられる抗酸化剤としては、具体的には、フラボノイド、ポリフェノール、ビタミンE、ビタミンCなどが挙げられる。フラボノイドとしては、より詳細には、ルチン、ヘスペリジン、ナリンジン、ケルセチンや、それらのそれぞれにグルコース又はその重合体などの糖類が結合してなる、糖転移ルチン、糖転移ヘスペリジン、糖転移ナリンジン、糖転移ケルセチンなどが挙げられる。ポリフェノールとしては、より詳細には、カテキン、没食子酸、プロアントシアニジンなどが挙げられる。さらに、植物抽出物である、エンジュ抽出物、ローズマリー抽出物、ユーカリ抽出物、ブドウ種子抽出物なども、この発明においては抗酸化剤として有利に利用できる。これらの抗酸化剤の当該細胞賦活剤における含量は特に制限がないけれども、当該細胞賦活剤を食用として用いる場合には、当該細胞賦活剤の呈味への影響を考慮して、食品分野で通常用いられる配合割合にしたがうか、またはそれ以下で用いるのが望ましい。

ところで、固状の形態にあるこの発明の細胞賦活剤は、安定性が優れていることに加えて、従来のローヤルゼリーに比べて、経口的に摂取する際に、その口腔内でより長期にわたって滞留する特徴がある。このことは、当該細胞賦活剤が口腔内の皮膚を介して直接的に、消化系での分解を受けずに体内に吸収され易いことを意味している。したがって、当該細胞賦活剤は、従来のローヤルゼリーに比べてより少量で所期の効果

を発揮しうる。なお、マルチトールなどの糖アルコールやプルランなどの増粘多糖は、ローヤルゼリーの品質に影響を与えることなく、口腔内での滞留をさらに促すので、この発明の細胞賦活剤にさらに糖アルコール及び／又は増粘多糖を含有せしめることも有利に実施できる。

5 この発明の細胞賦活剤には、さらに必要に応じて、乳化剤、香料、香辛料、色素、ビタミン、アミノ酸、ミネラル等の上記で述べた以外の成分をさらに含有させることも有利に実施できる。これらの成分は、この発明の細胞賦活剤の個々の利用分野で通常用いられる成分から目的に応じて適宜選択される。以上のような成分を含むこの発明の細胞賦活剤の
10 形態には特に制限はなく、粉末、錠剤、フィルム、シート、ペースト、乳液、溶液などの所望の形態で提供される。

以上のように構成されるこの発明の細胞賦活剤は、ローヤルゼリーが本来有している細胞賦活作用の1又は2以上を、より長期にわたって効果的に発揮する。ローヤルゼリー本来の細胞賦活作用としては、例えば
15 、肝細胞などの細胞の延命、免疫担当細胞などの細胞の増殖又は分化の促進、免疫担当細胞による生体防御機能の亢進、細胞の新陳代謝の促進、性中枢細胞の老化防止、精巣機能の賦活化などが挙げられる。また、ローヤルゼリーは、以上のような細胞賦活作用故に、斯かる細胞賦活の結果として、加齢に伴う血清における総コレステロール及び／又は総脂
20 質の上昇に対する抑制に奏効する場合もある。ローヤルゼリーによるこれらの細胞賦活作用は、実験的には、例えば、イン・ビトロで培養した細胞の延命、該培養細胞におけるDNA合成の亢進やアポトーシスの抑制、実験動物における精細管などの精巣機能に関わる細胞の賦活化、実験動物の延命などの現象として確認することができる。比較する細胞賦
25 活作用の種類や、当該細胞賦活剤の配合成分ならびに組成、保存条件などにもよるけれども、例えば、25℃で30日間保存したとき、ローヤ

ルゼリーの細胞賦活作用の残存率は通常40%未満であるところ、この発明の細胞賦活剤の形態にすると、同様の細胞賦活作用の同じ条件下での残存率は、一般に、50%程度以上、好適な場合には、60%以上、更に好適な場合には、80%以上である。

5 この発明の細胞賦活剤は、以上のような細胞賦活作用を安定して示すので、ヒトを含む哺乳類が摂取すると、その個々の細胞の機能を賦活したり、該機能の低下の抑制に奏効する。したがって、この発明の細胞賦活剤は、ヒトを含む哺乳類が簡便に利用できる、健康の維持・増進を目的とする、例えば、強壮剤、健康食品、健康補助食品などとしてとり
10 わけ有用である。対象とする哺乳類の種類、齢、性別や、目的とする効果などにもよるが、当該細胞賦活剤は、生ローヤルゼリーとしての重量換算で、体重1kgあたり、通常、0.1mg乃至10g、望ましくは、1日あたり1mg乃至1gの用量で、1日1回又は数回に分けて、効果に応じて、連日又は1日以上の間隔をおいて摂取するか、あるいは摂取
15 させればよい。

 この発明の細胞賦活剤を製造するには、以上に示したような成分と個々の含量に基づいて、目的に応じて、すなわち、対象とする哺乳類やその摂取方法などに応じて選ばれる適宜の組成にしたがって混合し、希釈、濃縮、乾燥、濾過、遠心分離等の処理を適宜施し、ローヤルゼリー及
20 びトレハロースを含む当該細胞賦活剤の成分を含有する画分を採取し、必要に応じて所望の形状に成形すればよい。各成分を配合する順序や、該処理を施す時期は、ローヤルゼリー本来の品質劣化を防ぐものであればいずれでもよく、例えば、できるだけ新鮮な、又は、採取後低温保存された生ローヤルゼリーにトレハロースを混合し、その後、必要に応じて
25 該処理を適宜施せばよい。また、製造過程でのローヤルゼリーの品質の劣化を防ぐためには、上記の工程はいずれも常温以下、望ましくは、

30℃以下の条件下で行うのがよい。

固状の形態のこの発明の細胞賦活剤は、例えば、ローヤルゼリーとトレハロースを混合し、必要に応じて他の成分を更に混合した後、該混合物を、減圧乾燥、真空乾燥、加熱乾燥等の通常の乾燥工程に供することにより得ることができる。また、トレハロースの無水物を利用することにより、通常の乾燥工程を経ることなく固状の形態の当該細胞賦活剤を得ることもできる。すなわち、結晶又は非結晶のトレハロースの無水物を、ローヤルゼリーに、生ローヤルゼリーとしての重量に対して、通常、4倍量以上、望ましくは、8倍量以上混合し、必要に応じて他の成分を更に混合した後、該混合物を、常温以下、望ましくは、30℃以下で、通常、4時間以上、望ましくは、8時間以上静置すればよい。トレハロースの無水物を用いて通常の乾燥工程を経ずに調製されたものは、細胞賦活作用の安定性がとりわけ優れているという特長がある。斯くして調製される固状の形態の当該細胞賦活剤は、必要に応じて、粉碎機、打錠機、圧延機などを用いて、粉末、錠剤、フィルム、シートなど所望の形態にしたり、さらに必要に応じて、例えば、斯かる粉末をカプセルに充填して利用することも有利に実施できる。

この発明の細胞賦活剤は、上記で述べたようにそれ自体で有用である一方、他の成分に配合してなる組成物の形態としても有利に利用できる。この発明は斯かる組成物を提供するものでもある。この発明による組成物は、通常、ヒトを含む哺乳類への経口的又は経皮的適用ないしは皮膚外用が許容される成分の1種又は2種以上を当該細胞賦活剤とともに含んでなり、例えば、食品分野、飲料分野、化粧品分野などで有利に利用することができる。この発明で用いる、ヒトを含む哺乳類への経口的又は経皮的適用ないしは皮膚外用が許容される成分としては、この発明の組成物の個々の利用分野で通常使用される、例えば、水、アルコール

、澱粉質、蛋白質、アミノ酸、繊維質、糖質、脂質、脂肪酸、ビタミン、ミネラル、着香料、着色料、甘味料、調味料、香辛料、防腐剤、乳化剤、界面活性剤などが挙げられる。

この発明の組成物の形態には特に制限はないけれども、当該細胞賦活剤の細胞賦活作用をより有効に発揮させるという観点からは、常温を超えない、望ましくは、30℃以下の温度条件下で利用可能なものが望ましい。望ましい食品の形態としては、例えば、アイスクリーム、アイスキャンデー、シャーベットなどの氷菓、氷蜜などのシロップ、バタークリーム、カスタードクリーム、フラワーペースト、ピーナッツペースト、
10 フルーツペーストなどのスプレッド及びペースト、チョコレート、ゼリー、キャンディー、グミゼリー、キャラメル、チューインガム、プリン、シュークリーム、スポンジケーキなどの洋菓子、ジャム、マーマレード、シロップ漬、糖菓などの加工果実ないしは加工野菜、まんじゅう、ういろう、あん、羊羹、水羊羹、カステラ、飴玉などの和菓子、醤油、
15 粉末醤油、味噌、粉末味噌、マヨネーズ、ドレッシング、食酢、三杯酢、テーブルシュガー、コーヒーシュガーなどの調味料などが挙げられる。望ましい飲料の形態としては、例えば、合成酒、醸造酒、果実酒、洋酒などの酒類、ジュース、ミネラル飲料、炭酸飲料、乳酸飲料、乳酸菌飲料、スポーツドリンク、ドリンク剤、茶、紅茶、ウーロン茶、コー
20 ヒー、ココアなどの清涼飲料などが挙げられる。望ましい化粧品の形態としては、例えば、ローション、乳液又はクリームの形態の、基礎化粧品、洗浄用化粧品、入浴用化粧品、頭髮化粧品、日焼け・日焼け止め化粧品、メイクアップ化粧品、発毛剤、育毛剤などが挙げられる。以上のような形態のこの発明による組成物を製造するには、目的とする製品を
25 慣用の製造方法にしたがって製造する過程の適宜の時期にこの発明の細胞賦活剤を添加するか、あるいは、ローヤルゼリーとトレハロースをそ

れぞれ添加すればよい。添加の時期に特に制限はないけれども、目的とする製品が加熱工程を経て製造されるものの場合には、加熱工程の後、常温、望ましくは、30℃以下に冷却した後に添加することにより、製造工程での細胞賦活作用の減衰を防ぐことができる。以上のようなこの

5 発明の組成物は、この発明の細胞賦活剤を、製品重量あたり、通常、0.001重量%乃至20重量%、望ましくは、0.01重量%乃至10重量%含有する。

以上のようなこの発明による組成物は、ローヤルゼリーによる細胞賦活作用を示す上、該作用が安定化されているので、通常の製品と同様に

10 日常的に利用することにより、利用した生体において細胞賦活作用が効果的に発揮され、その生体の抵抗力の増強や、体調不良の改善の早期化、健康な状態の維持などが達成される。したがって、この発明の組成物は、健康を維持・増進するための食品・飲料・化粧品などとして極めて有用である。また、頭皮を含む皮膚に適用する化粧品として利用する場合

15 には、皮膚疾患の予防ならびに該疾患に対する治療効果の改善、シワの予防・改善、発育毛の改善などに奏効する。

以下、実験及び実施例に基づいてより詳細にこの発明を説明する。

実験1 細胞賦活作用の安定化に及ぼす糖質の影響

20 実験1-1 無水トレハロースの調製

市販の含水結晶トレハロース粉末（商品名『トレハ』、株式会社林原商事販売）をジャケット付き回転式真空乾燥機を用いて、温度90℃、気圧-300乃至-350mmHgの条件で、約7時間減圧乾燥した。その後、温度を常温に、気圧を常圧に戻して、製品を回収し、無水トレ

25 ハロースを得た。

実験 1 - 2 細胞賦活剤の調製

本実験において、ローヤルゼリーとしては、未加工のブラジル産ローヤルゼリー（水分 67 重量％、 -20°C で保存。以下、単に「生ローヤルゼリー」という。）を、使用の際に随時常温で解凍し、直後に必要量を小分けして用いた。

25°C の条件下で、生ローヤルゼリー 1 重量部に実験 1 - 1 の方法で得た無水トレハロースの 4 重量部を加え十分に混合した。混合物を常温下で一夜減圧乾燥した後、粉砕機で粉末にし、この発明の細胞賦活剤（以下、「試験剤 1」という。）を得た。

10 無水トレハロースに代えて可溶性澱粉を用いたこと以外は試験剤 1 と同様に操作して粉末を調製し、比較剤 1 とした。無水トレハロースに代えて無水マルトースを用いたこと以外は試験剤 1 と同様に操作して粉末を調製し、比較剤 2 とした。また、生ローヤルゼリーを常温下で一夜減圧乾燥した後、粉砕機を用いて調製した粉末を比較剤 3 とした。

15

実験 1 - 3 細胞延命作用の安定化

ローヤルゼリーによる、イン・ビトロ培養系におけるラット肝細胞の延命作用と、該作用の保存安定性、ならびに、該保存安定性に及ぼす共存糖質の影響を以下の実験により調べた。

20 実験 1 - 2 の方法で調製した、試験剤 1、比較剤 1、比較剤 2 及び比較剤 3 を、調製直後にそれぞれガラス製褐色瓶に入れ 25°C の恒温槽内に静置した。また、解凍直後の生ローヤルゼリーを別途ガラス製褐色瓶に入れ、同様に恒温層に静置した（以下、「恒温保存生ローヤルゼリー」という）。以上の操作をした日を 0 日目として 20 日目までの期間、
25 毎日、試験剤 1、比較剤 1 乃至 3 を調製し、その直後に同様に恒温層に静置するとともに、生ローヤルゼリーを解凍し、同様に恒温層内に静置

した。

肝細胞のイン・ビトロ培養用の基本培地として、ウシ・トランスフェリン ($20 \mu\text{g}/\text{ml}$)、エタノールアミン ($20 \mu\text{M}$)、亜セレン酸ナトリウム ($2.5 \times 10^{-8}\text{M}$)、インスリン ($1 \times 10^{-6}\text{M}$)、デキサメタゾン ($1 \times 10^{-6}\text{M}$)、ペニシリンG ($100 \mu\text{g}/\text{ml}$)、ストレプトマイシン ($100 \mu\text{g}/\text{ml}$)、アプロチニン ($25 \text{ ng}/\text{ml}$) 及び重炭酸ナトリウム ($2 \text{ mg}/\text{ml}$) を補足した L-15 培地 (以下、「無血清 L-15 培地」という。) を調製した。

恒温層内で静置して、保存期間が 30 日に達した上記の試料 (試験剤 1、比較剤 1 乃至 3、恒温保存生ロイヤルゼリー) のいずれかを、生ロイヤルゼリーとしての重量換算で $10 \text{ mg}/\text{ml}$ の濃度でロイヤルゼリーを含むように、無血清 L-15 培地に補足し、試験培地とした。また、無血清 L-15 培地に、濃度 $10 \text{ mg}/\text{ml}$ の解凍直後の生ロイヤルゼリーを補足したものを陽性対照とした。無血清 L-15 培地を陰性対照とした。

ウイスター・ラット (体重約 200 g) より肝臓を摘出し、常法により破碎した。この破碎物を常法によりコラゲナーゼ処理して肝細胞を得た。この肝細胞を上記の試験培地又は対照培地に 2.5×10^5 個/ ml となるように浮遊させた。それぞれの細胞浮遊液を 2 ml ずつプラスチックシャーレ (内径 35 mm) に移し、 $5\% \text{ CO}_2$ インキュベーター中で 37°C でインキュベートして肝細胞を培養した。培養開始から 24 時間ごとに、上記の操作により、恒温層内で 30 日間の保存を終えた試料又は解凍直後の生ロイヤルゼリーを用いて、それぞれの試験培地ならびに対照培地と同様の組成の培地を調製して、各シャーレの培地をこの新鮮な培地と交換するとともに、シャーレあたりの全生細胞数を常法にしたがって求めた。同じ組成の培地による培養を 3 組ずつ行った。

いずれの培養系も、肝細胞は培養 24 時間目で培養開始時の約 2 倍にまで増殖した一方、その後の生細胞数は培養系ごとに異なる動向を示した。各培養系の培養 24 時間目における時点での生細胞数に対する、培養 480 時間目の生細胞数の百分率を求め、平均値を算出し、細胞生存率とした。陰性対照においては細胞生存率が約 45%であったのに対し、陽性対照では約 90%であった。この結果より、新鮮な生ローヤルゼリーには顕著な細胞延命作用があることが確認された。一方、生ローヤルゼリー又はその加工品（試験剤 1 及び比較剤 1 乃至 3）を保存した後に用いた試験培地においてはそれぞれ異なる細胞生存率を示し、共存糖質の種類又は有無等により、細胞延命作用の保存後の残存率が異なることが示唆された。

そこで、各試験培地における細胞生存率から、下記に示す数式により、各試料の保存後の細胞延命作用の残存率を求めた。各試験培地ごとに求めた結果をまとめ、表 1 に示した。

$$\text{保存後の細胞延命作用の残存率 (\%)} = \frac{(P - N) - (\text{試験培地における細胞生存率} - N)}{P - N} \times 100$$

〔註〕 P：陽性対照における細胞生存率の平均値
N：陰性対照における細胞生存率の平均値

表 1

試 料	備 考	25℃、30日間保存後の 細胞延命作用の残存レベル*
試験剤 1	生RJ + トレハロース	++
比較剤 1	生RJ + 澱粉	±
比較剤 2	生RJ + マルトース	±
比較剤 3	生RJの乾燥物	—
恒温保存生RJ	—	—

* 細胞延命作用の残存レベル： ++, 80%以上100%以下； +, 60%以上80%未満； ±, 40%以上60%未満； —, 0%以上40%未満

[註] 生RJは、生ローヤルゼリーを意味する。

表 1 に示すとおり、生ローヤルゼリーを 25℃で 30 日間保存すると解凍直後のときに示す細胞延命作用が顕著に減衰したのに対し、トレハロースを配合した場合（試験剤 1）には、同条件で保存した後も、解凍直後の生ローヤルゼリーに匹敵する細胞延命作用を示した。一方、生ローヤルゼリーに可溶性澱粉又は無水マルトースを配合した場合（それぞれ、比較剤 1、比較剤 2）には、保存後に、ある程度の細胞延命作用の残存は認められたものの、トレハロースを配合した場合と比較すると残存率は低かった。また、生ローヤルゼリーを直接乾燥した場合（比較剤 3）には、保存後に残存する細胞延命作用は顕著ではなかった。これは、乾燥生ローヤルゼリーの保存安定性の悪さというよりは寧ろ、生ローヤルゼリーの乾燥工程における該作用の減衰の結果と考えられる。以上の結果は、トレハロースが、ローヤルゼリーによる細胞賦活作用の一つである細胞延命作用の安定性を顕著に高めることを示している。

実験 2 細胞賦活作用の安定化に及ぼすトレハロース量の影響

25℃の条件下で、実験1で用いた生ローヤルゼリーと、実験1-1の方法で得た無水トレハロースとを、後記表2に示す割合で配合し、十分に混合した後、常温で一夜減圧乾燥し、乾燥物を粉碎して粉末を得た。

- 5 実験1-3の方法に準じて、上記の粉末を25℃で30日間保存した試料を、解凍直後の生ローヤルゼリーを補足したL-15培地を陽性対照とし、無血清L-15培地を陰性対照とする、ラット肝細胞の延命作用を確認する実験に供した。本実験における試験培地のローヤルゼリー含量は、生ローヤルゼリーとしての重量換算で、いずれも10mg/ml
- 10 1となるように調整した。実験1に準じて各試料の保存後の細胞延命作用の残存レベルを求めた結果を表2にまとめた。

表2

配合（重量部）		25℃、30日間保存後の 細胞延命作用の残存レベル*
生ローヤルゼリー	無水トレハロース	
1	0	—
1	0.02	—
1	0.05	±
1	0.1	±
1	0.2	+
1	0.5	+
1	1	+
1	2	++
1	5	++

*細胞延命作用の残存レベル： ++, 80%以上100%以下； +, 60%以上80%未満； ±, 40%以上60%未満； —, 0%以上40%未満

表 2 に示されるとおり、細胞延命作用のトレハロースによる安定化は、生ローヤルゼリーとしての重量に対して、トレハロースを無水物重量換算で 0.05 倍量以上配合したとき認められ、0.2 倍量以上配合した場合に顕著となり、2 倍量以上の配合でほぼ最大となった。以上の結果は、ローヤルゼリーの細胞延命作用の安定化という観点からは、ローヤルゼリーに対するトレハロース（無水物換算）の配合量は、生ローヤルゼリーとしての重量を基準として、望ましくは 0.2 倍量以上であって、2 倍量以上あれば十分であることを示している。

一方、データは示していないけれども、本実験でより顕著な安定性を示した試料ほど、すなわち無水トレハロースの含量がより高い試料ほど、生ローヤルゼリーと比べてより良好な呈味を示すことをパネルテストにより確認した。また、この発明の細胞賦活剤におけるローヤルゼリーによる細胞賦活作用の発現という点からは、ローヤルゼリーの含量は高い方がよく、ヒトを対象とするローヤルゼリーの従来の用量を考慮すると、総重量あたり生ローヤルゼリーとしての重量換算で 1 重量%以上が望ましく、さらに、2 重量%以上がより望ましいといえる。したがって、以上のことを総合すると、総重量あたりローヤルゼリーを生ローヤルゼリーとしての重量換算で 1 重量%以上、望ましくは、2 重量%以上含み、該生ローヤルゼリーとしての重量に対してトレハロースを無水物重量換算で 0.2 倍量以上、望ましくは、2 倍量以上配合してなるこの発明の細胞賦活剤は、細胞賦活作用の一つである細胞延命作用の安定性にとりわけ優れ、その作用が顕著であることに加えて、それ自体の呈味が良好であるという特性を示すものである。また、ローヤルゼリーとトレハロース以外の成分を配合する場合を考慮すると、ローヤルゼリーに対するトレハロースの配合割合は、生ローヤルゼリーとしての重量を基礎として、トレハロースを無水物換算で、通常、50 倍量以下、望ましく

は 2 5 倍量以下がよい。

実験 3 ローヤルゼリーによる精巣機能の賦活化に及ぼすトレハロースの影響

5 実験 1 - 2 の方法により調製した、この発明の細胞賦活剤である試験剤 1 を、その調製後直ちに、実験動物用の通常の粉末飼料と混合し、生ローヤルゼリーとしての重量換算で、総重量あたり 5 0 p p m 又は 5 0 0 p p m の含量でローヤルゼリーを含む粉末飼料（以下、「試験飼料」という。）を調製した。また、5 0 0 p p m でローヤルゼリーを含む試験飼料における試験剤 1 を、同重量の、実験 1 - 1 で調製された無水トレハロースに置き換えた飼料（以下、「対照飼料」という。）を調製した。3 0 匹の 2 6 週齢の雄性ハムスターを対照飼料で 1 週間飼育した後、1 群あたり 1 0 匹の 3 群に群分けした。第 1 群のハムスターには対照飼料を、第 2 群及び第 3 群のハムスターには、それぞれ、5 0 p p m 及び 5 0 0 p p m の含量でローヤルゼリーを含む試験飼料を、粉末飼料用の市販の給餌器を介して自由摂取させつつ 1 2 週間飼育した。

この飼育期間中の毎日、各個体の飼料の摂取量と体重を計測した。また、この飼育期間の終了後、各個体の精巣機能を、以下のとおり精巣標本を解析することにより調べた。すなわち、先ず、全ての個体より 1 個の精巣（右側）を摘出し、常法にしたがって、1 5 % 中性緩衝ホルマリ
20 ン液に固定して精巣組織標本を作製した。この標本を、ヘマトキシリン-イオシン染色した後、顕微鏡観察下、精細管を組織学的に解析した。各標本において、任意の 5 箇所を 1 0 0 倍の倍率で目視し、1 視野内の精細管の数を計測するとともに、計測された精細管を、退行性変化を示すもの（精細胞の変性・消失、精細管の空洞など）と、組織構造が堅持
25 された、造精の活発なものに分類した。各標本ごとに、全精細管中に

占める、造精の活発な精細管の率（％）の平均値を求め、さらに、求められた値を各群ごとに平均した。

上記の飼育期間中、1日あたりの飼料の摂取量はいずれの個体も体重の約5重量％であり群間に差はなかった。また、体重の推移も群間に差は認められなかった。精巣標本の組織学的解析の結果を、表3にまとめて示す。

表 3

群	飼 料	造精の活発な精細管の占める率
1	対照試料 (RJ含まず)	約15%
2	試験試料 (50ppm 生RJ)	約25%
3	試験試料 (500ppm 生RJ)	約50%

〔註〕 RJは、ローヤルゼリーを意味する。

表3に示すとおり、造精の活発な精細管の占める率は、ローヤルゼリーの摂取量に依存的に上昇した。また、顕微鏡観察下での目視において、対照飼料を摂取した群と比較して、試験剤1を配合した試験飼料を摂取した群、特に、ローヤルゼリーを500ppmで含有する試験飼料を摂取した群においては、明らかに多くの精子形成が確認された。

次に、上記の実験で用いた試験剤1（調製直後）に代えて、実験1-2の方法により調製し、実験1-3にしたがって暗下、25℃で、30日間保存した試験剤1及び比較剤2、ならびに、実験1-3にしたがって同様に暗下、25℃で、30日間保存した恒温保存生ローヤルゼリーを用いて上記と同様の実験を行った。その結果、保存後の試験剤1を用いた場合には上記とほぼ同等の結果が得られた。これに対して、保存後の比較剤2ならびに恒温保存生ローヤルゼリーを用いた場合には、いずれも、造精の活発な精細管の占める率がローヤルゼリーの摂取量に依存

して上昇する傾向は顕著ではなかった。しかも、個体によっては、ローヤルゼリーを摂取したにも関わらず、対照群と同等の率に留まるものも数多く見られた。

5 以上に示した結果は、トレハロースの添加によって、ローヤルゼリーによる精巣機能の賦活化作用が顕著に安定化されることを示している。

実験 4 ローヤルゼリーによるマウスの延命作用に及ぼすトレハロースの影響

10 実験 1 - 2 の方法により調製した、この発明の細胞賦活剤である試験剤 1 を、その調製後直ちに、実験動物用の通常の粉末飼料と混合し、生ローヤルゼリーの重量換算で、総重量あたり 5 0 p p m 又は 5 0 0 p p m の含量でローヤルゼリーを含む粉末飼料（以下、「試験飼料」という。）を調製した。また、5 0 0 p p m でローヤルゼリーを含む試験飼料における試験剤 1 を、同重量の、実験 1 - 1 で調製された無水トレハロースに置き換えた飼料（以下、「対照飼料」という。）を調製した。3
15 0 匹の 7 週齢の雄性 C 3 H / H e J マウスを 1 群あたり 1 0 匹の 3 群に群分けした。第 1 群のマウスには対照飼料を、第 2 群及び第 3 群のマウスには、それぞれ、5 0 p p m 及び 5 0 0 p p m の含量でローヤルゼリーを含む試験飼料を、粉末飼料用の市販の給餌器を介して自由摂取させ
20 つつ飼育した。それぞれの個体の、生存中の 1 日あたりの飼料の摂取量は、いずれも、一般的な飼料を用いた場合とほぼ同じであり、群間に差はなかった。

対照飼料を摂取させた第 1 群のマウスは、3 2 週齢の時点で死亡個体が見られはじめ、4 2 週齢の時点での死亡個体数は 3 匹に達した。一方
25 、この発明の細胞賦活剤である試験剤 1 を配合した飼料を摂取させた第 2 群及び第 3 群のマウスは 4 2 週齢の時点でも全て生存していた。

次に、上記の実験で用いた試験剤 1（調製直後）に代えて、実験 1 - 2 の方法により調製し、実験 1 - 3 にしたがって暗下、25℃で、30 日間保存した試験剤 1 及び比較剤 2、ならびに、実験 1 - 3 にしたがって同様に暗下、25℃で、30 日間保存した恒温保存生ローヤルゼリーを用いて上記と同様の実験を行った。その結果、保存後の試験剤 1 を摂取させた群では、上記と同じく 42 週齢の時点で全てのマウスは生存していた。これに対して、保存後の比較剤 2 ならびに恒温保存生ローヤルゼリー摂取させた群は、いずれも、対照飼料を摂取させた群と同様の生存曲線をたどり、42 週齢の時点での死亡個体数は 2 乃至 3 匹であった。以上の結果は、トレハロースの添加によって、ローヤルゼリーによるマウスの延命作用が顕著に安定化されることを示している。

実施例 1 健康食品

25℃の条件下で、実験 1 - 1 の方法で得た無水トレハロースの 9 重量部と、実験 1 - 2 で用いた解凍直後の生ローヤルゼリーの 1 重量部とを均一に混合し、この混合物を 25℃で一夜静置した後、粉碎機を用いて粉末にした。この粉末を 0.42 mm φメッシュの篩を通したものを回収し、この発明の細胞賦活剤を得た。実験 1 に準じて操作し、当該細胞賦活剤が常温保存後も安定して細胞延命作用を示すことを確認した。当該細胞賦活剤を打錠機を用いて 1 錠あたり約 200 mg の錠剤に成形した。本品は、常温保存の後も安定して細胞賦活作用を示す、簡便に利用できかつ著効を示す細胞賦活剤である。本品は、まろやかな甘味と適度な酸味を示すので、日常的に利用する健康食品として有用である。

25 実施例 2 健康食品

以下の成分を以下の配合で均一に混合した後、実施例 1 に準じて操作

して、粉末の形態のこの発明の細胞賦活剤を調製した。調製後、実験 1 に準じて操作し、当該細胞賦活剤が常温保存後も安定して細胞延命作用を示すことを確認した。

- | | | |
|----|--|-----------|
| 5 | 実験 1 - 1 の方法で得た無水トレハロース | 8 . 5 重量部 |
| | 実験 1 - 2 の解凍直後の生ローヤルゼリー | 0 . 5 重量部 |
| | 糖転移ヘスペリジン（商品名『 α GヘスペリジンPS』、株式会社林原商事販売） | |
| | | 0 . 5 重量部 |
| 10 | プルラン（商品名『プルランPF-20』、株式会社林原商事販売） | |
| | | 0 . 5 重量部 |

- この細胞賦活剤を、打錠機を用いて 1 錠あたり約 300 mg の錠剤に成形した。本品は、常温保存の後も安定して細胞賦活作用を示す、簡便
- 15 に利用できかつ著効を示す細胞賦活剤である。本品は、まろやかな甘味と適度な酸味により良好な呈味を示すので、日常的に利用する健康食品として有用である。

実施例 3 健康食品

- 20 以下の成分を以下の配合で均一に混合した後、実施例 1 に準じて操作して、粉末の形態のこの発明の細胞賦活剤を調製した。調製後、実験 1 に準じて操作し、当該細胞賦活剤が常温保存後も安定して細胞延命作用を示すことを確認した。

- | | | |
|----|-------------------------|-----------|
| 25 | 実験 1 - 1 の方法で得た無水トレハロース | 7 . 5 重量部 |
| | 実験 1 - 2 の解凍直後の生ローヤルゼリー | 1 . 0 重量部 |

マルチトール

1. 3 重量部

レートリプトファン

0. 2 重量部

本品は、常温保存の後も安定して細胞賦活作用を示す、簡便に利用できかつ著効を示す細胞賦活剤である。本品は、まろやかな甘味と適度な酸味により良好な呈味を示すので、日常的に利用する健康食品として有用である。

実施例 4 アイスクリーム

生クリーム（油脂含量約 46 重量％）18 重量部、脱脂粉乳 7 重量部、全乳 51 重量部、砂糖 10 重量部、ラクトスクロース含有粉末（登録商標『乳化オリゴ』）4 重量部、プルラン 2 重量部、及びアラビアガム 2 重量部の混合物を溶解し、70℃で30分間保持して殺菌した後、ホモゲナイザーで乳化分散させ、次いで、3乃至4℃にまで急冷し、これに、実施例 2 の方法で得た細胞賦活剤 4 重量部を加えてさらに混合し、一夜熟成した後、フリーザーで凍結させてアイスクリームを得た。

本品は、適度な甘味と上品な風味を示すとともに、細胞賦活作用を示す、健康の維持・増進に奏効するアイスクリームである。

20 実施例 5 甘酒

白米 10 重量部を、常法に従って水を加えて炊き上げ、次いで、得られた飯米を冷却して 55℃とし、常法により調製したた麴 30 重量部と食塩 0.1 重量部を混合して 50 乃至 55℃で 8 時間保ち、これをミキサーにかけ、さらに約 25℃にまで冷却した時点で、実施例 1 の方法で得た細胞賦活剤 2 重量部を加えて混合した後、小包に充填し、甘酒を得た。

本品は、色調もよく、風味豊かな高品質の甘酒である上、穏やかに細胞賦活作用を示すので、健康の維持・増進のための飲料として有用である。

5 実施例 6 健康飲料

無水結晶マルトース 500 重量部、実施例 3 の細胞賦活剤 100 重量部、粉末卵黄 190 重量部、脱脂粉乳 200 重量部、塩化ナトリウム 4.4 重量部、塩化カリウム 1.85 重量部、硫酸マグネシウム 4 重量部、チアミン 0.01 重量部、アスコルビン酸ナトリウム 0.1 重量部、
10 ビタミン E アセテート 0.6 重量部及びニコチン酸アミド 0.04 重量部からなる配合物を調製した。この配合物 25 重量部を精製水 150 重量部に均一に分散・溶解させ、150 g ずつ褐色ガラス瓶に封入した。

本品は、細胞賦活作用を安定して示す上、栄養源が補足されているので、健康維持、成長促進、病気の予防、治療の促進、スポーツ後の疲労回復促進などを目的とする健康飲料として有利に利用できる。なお、本品は、ヒトのみならず、家畜などの動物のための経口摂取又は経管投与
15 用組成物としても有利に利用できる。

実施例 7 皮膚外用クリーム

20 以下の成分を、以下の配合にしたがって、常法により加熱しつつ混合した。

モノステアリン酸ポリオキシエチレングリセリン	2.0 重量部
自己乳化型モノステアリン酸グリセリン	5.0 重量部
25 ベヘニン酸エイコサニル	1.0 重量部
流動パラフィン	1.9 重量部

トリオクタン酸トリメチロールプロパン 10.0重量部

上記の混合物に、細胞賦活剤を除く以下の成分を以下の配合にしたが
って添加・混合し、30℃以下にまで冷却した後に、さらに細胞賦活剤
5 を以下の配合で加え、ホモゲナイザーにより乳化して、皮膚外用クリー
ムを製造した。

1, 3-ブチレングリコール	5.0重量部
乳酸ナトリウム液	10.0重量部
10 パラオキシ安息香酸メチル	0.1重量部
モモ葉エキス	1.5重量部
精製水	62.2重量部
実施例1の方法で得た細胞賦活剤	1.0重量部

15 本クリームは、優れた保湿性を示す上、皮膚の細胞に活力を与えるの
で、皮膚のみずみずしさを保つ基礎化粧品として有用である。

産業上の利用の可能性

以上説明したように、この発明は、ローヤルゼリーとトレハロースを
20 含んでなる細胞賦活剤が、ヒトを含む哺乳類に対して、生ローヤルゼリ
ー本来の顕著な細胞賦活作用を示す上に該作用の保存安定性に優れてい
るという全く独自の知見に基づくものである。当該細胞賦活剤は、重篤
な副作用の懸念がない上、トレハロースの共存によりまろやかな甘味を
呈するので、ヒトを含む哺乳類が簡便かつ快適に、健康の維持・増進の
25 ために利用することができる。また、以上のような特長を有するこの発
明の細胞賦活剤は、他の成分と配合することにより、食品、飲料、化粧

品など各種組成物として利用することも有利に実施できる。

この発明は、斯くも顕著な作用効果を奏する発明であり、斯界に貢献すること誠に多大な意義のある発明である。

請 求 の 範 囲

1. ローヤルゼリーと α , α -トレハロースとを含む細胞賦活剤。
2. 抗酸化剤の1種又は2種以上をさらに含む請求の範囲第1項に記載
5 の細胞賦活剤。
3. 抗酸化剤がフラボノイド、ポリフェノール、ビタミンE及びビタミンCである請求の範囲第2項に記載の細胞賦活剤。
4. 糖アルコール及び／又は増粘多糖をさらに含む請求の範囲第1項乃至第3項のいずれかに記載の細胞賦活剤。
- 10 5. 糖アルコールがマルチトールであるか、及び／又は増粘多糖がプルランである請求の範囲第4項に記載の細胞賦活剤。
6. 固状の形態にある請求の範囲第1項乃至第5項のいずれかに記載の細胞賦活剤。
7. ローヤルゼリーを生ローヤルゼリーとしての重量換算で1重量%以上含み、該生ローヤルゼリーとしての重量に対して、無水物重量換
15 算で、0.2倍量乃至50倍量の α , α -トレハロースを含む請求の範囲第1項乃至第6項のいずれかに記載の細胞賦活剤。
8. 強壮剤、健康食品又は健康補助食品としての請求の範囲第1項乃至第7項のいずれかに記載の細胞賦活剤。
- 20 9. ローヤルゼリーと α , α -トレハロースとを混合する工程を含む請求の範囲第1項乃至第8項のいずれかに記載の細胞賦活剤の製造方法。
10. α , α -トレハロースが無水物である請求の範囲第9項に記載の細胞賦活剤の製造方法。
- 25 11. 請求の範囲第1項乃至第8項のいずれかに記載の細胞賦活剤を配合してなる組成物。

12. ローヤルゼリーと共に α 、 α -トレハロースを配合してなる組成物。

13. 食品、飲料又は化粧品としての請求の範囲第11項又は第12項に記載の組成物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/01045

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K35/64, 31/7016, 7/00, 7/48, A61P43/00, 7/00, A23L1/29, 1/076

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K35/64, 31/7016, 7/00, 7/48, A23L1/29, 1/076

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
WPI, JOIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP, 600730, A1 (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KENKYUJO), 08 June, 1994 (08.06.94), whole document, especially Claims; p.2 line 37; p.5, line 42; p.6 lines from 1 to 9 & JP, 6-170221, A & US, 5543513, A	1-13
Y	JP, 11-32705, A (YAKULT HONSHA CO., LTD.), 09 February, 1999 (09.02.99), Full text; especially, Claims; example (Family: none)	1-3, 6-13
Y	JP, 60-37942, A (Sanraku Inc.), 27 February, 1985 (27.02.85), Full text; especially, p.2, lower right column, line 4 (Family: none)	1-13
Y	Yoshimasa HAYASHI "Royal Gelly no Tokusei to Ouyou" Fragrance Journal, Extra issue, No.4(1983) pp.159-161, Full text	1-13
Y	JP, 10-279463, A (The Nisshin Oil Mills, Ltd.), 20 October, 1998 (20.10.98),	1-13

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
10 April, 2001 (10.04.01)

Date of mailing of the international search report
24 April, 2001 (24.04.01)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/01045

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Claim 5 (Family: none)	
Y	JP, 10-95704, A (KOSE Corporation), 14 April, 1998 (14.04.98), Claim 5 (Family: none)	1-13
PX PA	JP, 2000-342231, A (Kanebo, LTD.), 12 December, 2000 (12.12.00), Par. No. [0032] (Family: none)	1-3, 6-13 4, 5

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO1/01045

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K35/64, 31/7016, 7/00, 7/48, A61P43/00, 7/00, A23L1/29, 1/076

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K35/64, 31/7016, 7/00, 7/48, A23L1/29, 1/076

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI, JOIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	EP, 600730, A1 (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KE NKYUJO) 8. June. 1994 (08. 06. 94) whole document, especially claims, P. 2 line 37, P. 5 line 42, P. 6 lines from 1 to 9 & JP, 6-17 0221, A & US, 5543513, A	1-13
Y	JP, 11-32705, A (株式会社ヤクルト本社) 9. 2月. 1999 (09. 02. 99) 全文、特に【特許請求の範囲】、【実施例】 (ファミリーなし)	1-3, 6-13
Y	JP, 60-37942, A (三楽オーシャン株式会社) 27. 2月. 1985 (27. 02. 85) 全文、特に第2頁右下欄第4行 (ファミリーなし)	1-13

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10. 04. 01

国際調査報告の発送日

24.04.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

4C

9051

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	林 美正「ローヤルゼリーの特性と応用」フレグランス ジャーナル臨時増刊, No. 4(1983)P. 159~161, 全文	1-13
Y	JP, 10-279463, A (日清製油株式会社) 20. 10月. 1998(20. 10. 98) 【請求項5】 (ファミリーなし)	1-13
Y	JP, 10-95704, A (株式会社コーセイ) 14. 4月. 1998(14. 04. 98) 【請求項5】 (ファミリーなし)	1-13
P X P A	JP, 2000-342231, A (鐘紡株式会社) 12. 12月. 2000(12. 12. 00) 第【0032】段落 (ファミリーなし)	1-3, 6-13 4, 5